

# SOMMAIRE

## Introduction

### Première partie : Rappels bibliographiques

I - Généralités sur la plante

I-1-Rappels botaniques

I-1-1-Position systématique des Caesalpiniaceae

I-1-2-Dénomination

I-1-3-Description botanique de la plante

I-1-4-Répartition géographique et habitat

II- Rappels sur la chimie de la plante

III-Propriétés et emplois de la plante

IV-Bibliographie sur l'activité pharmacologique de *Cassia sieberiana*

### Deuxième partie : Etude expérimentale

I - Matériel et Méthode

I-1-Récolte et conservation des échantillons

I-2-Matériel et réactifs utilisés

1-2-1-Matériel utilisé

1-2-2-Réactifs

I-3-Méthode d'étude

I-3-1-Screening Phytochimique

I-3-1-1-Recherche des Flavonoïdes

I-3-1-2-Recherche des Tanins

I-3-1-3-Recherche des Hétérosides Anthracéniques

I-3-1-4-Recherche des Alcaloïdes  
I-3-1-5-Recherche des Saponosides  
I-3-2-Etude Comparative des composants des différents extraits par CCM  
I-3-2-1-Rappels sur les principes de base sur chromatographie  
I-3-2-2- Méthodes d'extraction  
I-3-2-3-CCM des Hétérosides flavonoïdes  
I-3-2-4-CCM des Hétérosides anthracéniques  
I-3-2-5-CCM des Tanins  
I-3-3-Dosage des anthracènes et des flavonoïdes

## II- **Résultats**

II-1-Résultats du screening phytochimique de quelques groupements chimiques  
II-2-Résultats des extractions  
II-3-Résultats des essais de caractérisation par CCM  
II-3-1-Les Flavonoïdes  
II-3-2-Les Hétérosides anthracéniques  
II-3-3-Les Tanins  
II-4-Résultats des dosages des anthracènes et des flavonoïdes

## III - **Discussion**

III-1-Screening phytochimique  
III-2-Résultats des extractions  
III-3-Charactérisation par CCM  
III-4-Comparaison des CCM des extraits  
III-5-Dosage des anthracènes des flavonoïdes

## **Conclusion Générale**

## INTRODUCTION

L'utilisation des plantes comme remède naturel est une pratique qui date depuis l'antiquité .Cet usage séculaire des plantes médicinales a porté ses fruits à travers des générations successives.

Cependant, avec l'avènement de la modernité, cette pratique a pris du recul dans les pays du nord.

Par contre, dans les pays en développement, l'emploi des plantes médicinales demeure une pratique encore courante.

Les raisons qui incitent la population à mener cette pratique quotidienne sont toutes simples à identifier :

- la situation socio-économique de la population ne cesse de dégrader
- le pouvoir d'achat de la population reste toujours dérisoire
- les médicaments pharmaceutiques ne sont pas à la portée de toutes les bourses.

C'est dans cette dynamique que l'OMS préconise la revalorisation des plantes médicinales dont l'apport est de taille dans le traitement de certaines maladies.

D'ailleurs le gouvernement du Sénégal, lors de la célébration de la journée africaine de la médecine traditionnelle du 31 Août 2005, par le biais de son ministère de la santé, a annoncé une éventuelle réglementation et légalisation de la médecine traditionnelle.

Cette revalorisation de la médecine traditionnelle ne peut se faire que par le recours à des méthodes scientifiques.

Notre travail est une modeste contribution à l'étude d'une plante médicinale poussant au :*Cassia sieberiana*

Cette plante est très prisée dans la société africaine et plus particulièrement au Sénégal pour soigner les douleurs abdominales et les parasitoses intestinales.

C'est dans cette optique que nous avons prise l'initiative de rechercher des principes actifs contenus dans les feuilles, les écorces de tige et les racines de *Cassia Sieberiana*.

Une telle initiative est entreprise dans le souci d'évaluer leur teneur en principes actifs.

Ce travail comprend deux grandes parties :

- la première sera consacrée aux rappels sur la botanique, la chimie et la pharmacologie de l'espèce considérée.
- et la seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale sur la chimie de la plante.

**PREMIERE PARTIE :**  
**RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES**

## I - GENERALITES SUR LA PLANTE

*Cassia sieberiana* (D.C), communément appelé sendiegne en Wolof est une plante appartenant à la Famille des Caesalpiniceae.

### I-1- Rappels botaniques

#### I-1-1-Position systématique de *Cassia sieberiana* [1]

Règne :	Végétal
Sous règne :	Cormophytes
Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Dialypétales
Série :	Caliciflores
Ordre :	Rosales
Famille :	Caesalpiniceae
Genre :	<i>Cassia</i>
Espèce :	<i>sieberiana</i>

#### I-1-2-Dénominations [4,11, 14 ,23]

*Cassia sieberiana* est une espèce végétale très connue et très appréciée dans tout le Sénégal où elle pousse autour des villages. Elle se nomme aussi, *Cassia kotschyana*.

On la retrouve sous diverses appellations du fait de la diversité des dialectes au sein de la population sénégalaise.

Français : *cassia de sieber*, glycine de brousse, cassé du Sénégal

Wolof : sendiegne, senjen

Sérère: salé, salum

Diola : busaheit , kuseit

Poular: sindia, sindiou

Peulh : bosé, gama

Malinké : sindia

Soussou : bangbona

### I-1-3-Description botanique de la plante [11, 14,23]



**Figure 1 : PHOTO illustrative de la plante de *Cassia sieberiana* (CIRAD-2005 auteur : P.Poilecot)**

*Cassia sieberiana* est une plante qu'on rencontre partout dans le Sénégal. Vu sa taille, l'espèce est classée parmi les arbres.

**Port :** *Cassia sieberiana* est un petit arbre au fût généralement court dont la taille variant entre 8 et 10m de hauteur. Il est fréquemment ramifié près de la base et est caractérisé par ses branches flexueuses et tombantes.

**Ecorce :** elle est brunâtre et devient noirâtre avec l'âge.

**Feuille :** les feuilles sont composées, paripennées avec 6 à 10 paires de folioles. Elles sont opposées, alternes, ovales ou oblongues de couleur vert foncé avec une base arrondie et un sommet en coin.

**Fleurs :** les fleurs remarquables à leur couleur jaune or sont larges de 3 à 4cm et se présentent en grappes légères, pendantes. Elles sont longues de 15 à 30cm. Ces fleurs portent 5 pétales étalés.

**Fruits :** les fruits sont formés de gousses cylindriques, ligneuses de 40à 60cm de longueur et peuvent mesurer jusqu'à 2 cm de largeur, indéhiscentes, brun foncé, cloisonnés transversalement. Chaque loge contient une graine.

**I-1-4 - Répartition géographique et habitat [11, 14,23]**

*Cassia sieberiana* est une espèce très rustique se contente de sols arides mais préfère toutefois les sols humides des galeries forestières bien drainées sous une pluviométrie de 500mm.

C'est une espèce qui pousse spontanément à proximité des villages et qui est très recherchée par les populations. Cela est lié à sa qualité thérapeutique dans la médecine traditionnelle.

Cette espèce végétale se rencontre dans les savanes boisées ou arbustes soudaniennes, jusqu'en lisières des forêts guinéennes, en Casamance. Très rarement, on la retrouve dans le sud du sahel où elle persiste dans les galeries sèches et les sols sablonneux.

Elle a une vaste aire de répartition dans le continent africain.

Par ailleurs, le cassé du Sénégal est retrouvé au Sénégal, en Guinée, au Mali, en Gambie, en Côte d'Ivoire, au Ghana, au Nigeria, au Cameroun, au Tchad, et au Soudan.

## **II - RAPPELS SUR LA CHIMIE DE LA PLANTE**

L'établissement de la composition chimique des différents organes est une étape capitale pour l'étude comparative que nous avons envisagée.

En effet, en 1940, BALANSARD et MOREL [25] lors d'examens anatomiques de la racine du glycine de brousse, y mettaient en évidence l'abondance d'oxalate de calcium.

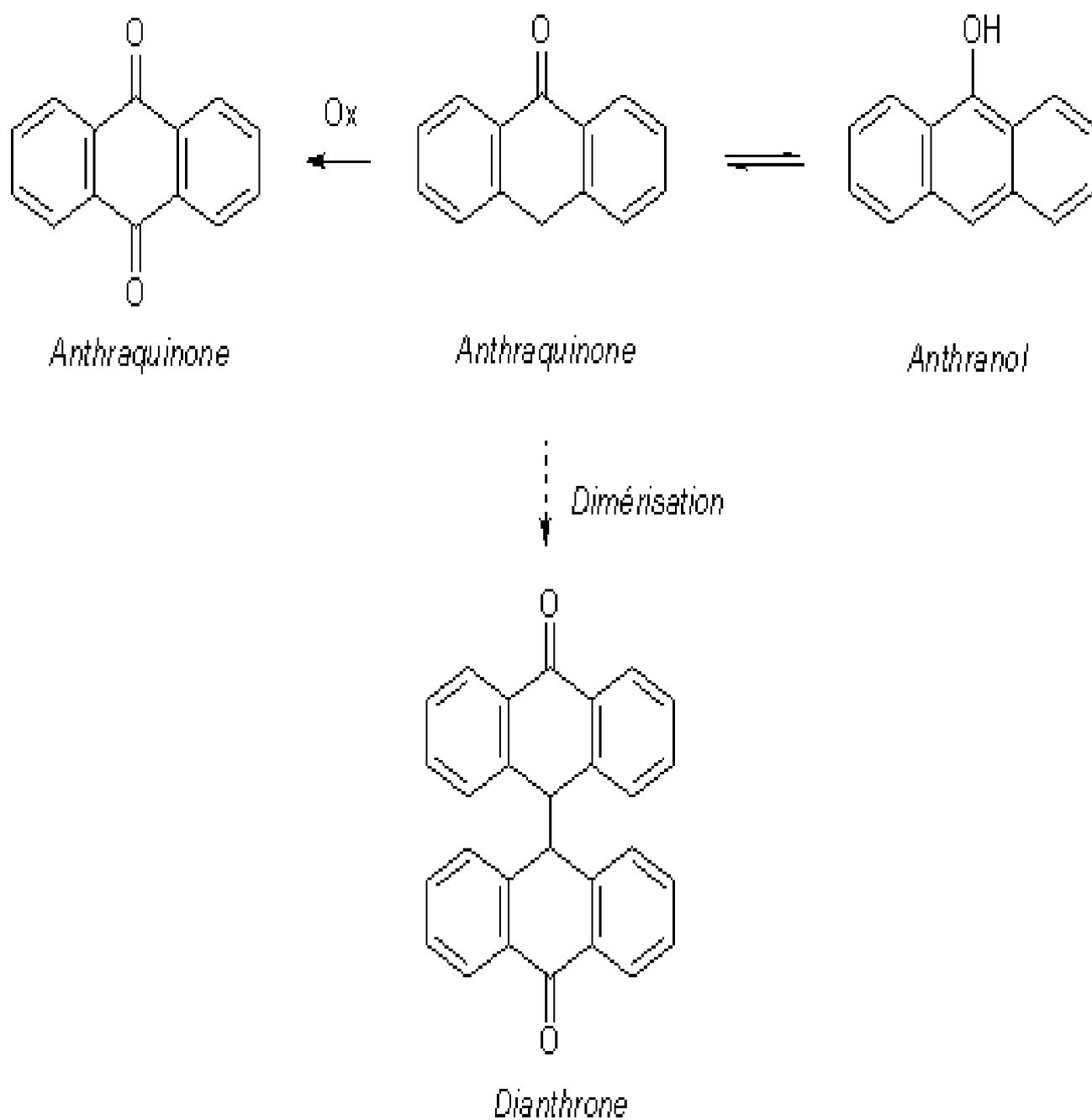
Dans la même année, VIGNOLI et BALANSARD [25] signalèrent l'existence d'antraquinones et de tanins catéchiques dans les racines.

En 1967, PARIS et ETCHEPARE [19] étudiant les polyphénols de la racine décelèrent de petites quantités de dérivés anthracéniques (0.15%) et des flavonols.

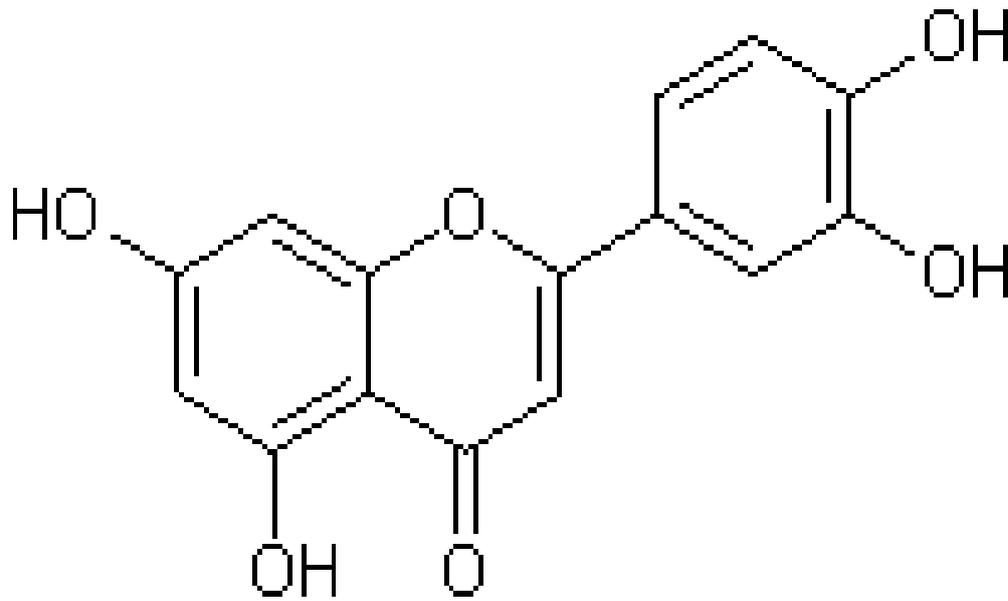
Les feuilles de *Cassia sieberiana* renferment quant à elles les groupes chimiques suivants :

- des dérivés anthraquinoniques : rhéine et rhéine-8-glucoside, aloé-émодол,
- des dérivés flavoniques : quercétol-3-rhamnoside et quercétol-3-glucoside,
- des tanins catéchiques à faible proportion.

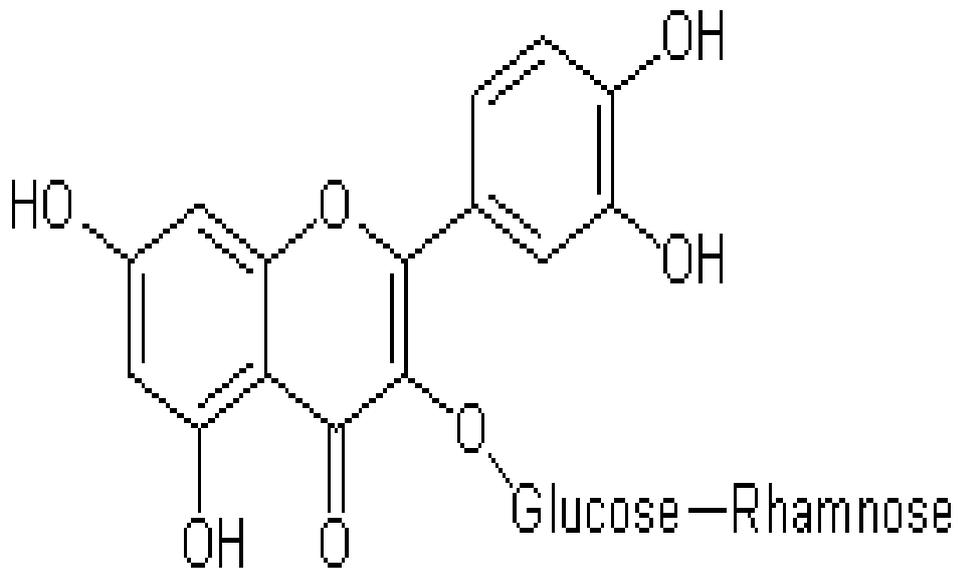
La présence d'oxalate de calcium et une faible teneur d'acide cyanhydrique a été notée.



Structures chimiques de quelques anthracènes



*Quercétine*



*Autoside*

Structures chimiques de quelques flavonoïdes

Le tableau suivant permet de faire un résumé de l'ensemble des composés chimiques énumérés précédemment [14].

**Tableau 1 : récapitulatif des principes actifs contenus dans différents organes de *Cassia sieberiana***

<b>Parties utilisées</b>	<b>Constituants</b>	<b>Référence</b>
<b>Ecorce de tige</b>	<b>Tanins catéchiques</b> <b>Oxalate de calcium</b> <b>Acide cyanhydrique</b>	<b>14</b>
<b>Feuilles</b>	<b>Hétérosides anthracéniques</b> <b>Dérivés flavoniques</b> <b>Une leucoanthocyane</b> <b>Tanins catéchiques</b>	<b>1,14</b>
<b>Racines</b>	<b>Oxalate de calcium</b> <b>Mucilages</b> <b>Stérols</b> <b>Flavonoïdes</b> <b>Anthraquinones</b> <b>Tanins catéchiques condensés</b> <b>Une leucoanthocyane</b>	<b>14,19</b>

Dans ce présent travail nous proposons de caractériser et de doser les principes actifs les plus significatifs cités plus haut dans les organes : feuilles, racines et écorces de tiges.

### **III - PROPRIETES ET EMPLOIS DE LA PLANTE**

D'après une revue scientifique, au Burkina Faso, les tradipraticiens utilisent la poudre d'écorces de racine de *Cassia sieberiana* DC, Caesalpiniaceae. Cette poudre est mise en gélules et utilisée pour la prise en charge des personnes vivant avec le VIH [21]

Selon Adjanooun et al (1968) [1], le décocté de racine de *Cassia sieberiana* est utilisé au Togo comme purgatif par voie orale.

Les écorces de racines, selon les mêmes auteurs, en décoction dans de l'eau sont utilisés dans le traitement de la dysménorrhée, de la stérilité féminine, de l'ictère, de l'ascite et de la dyspepsie par administration par voie orale.

Sous forme de décocté et de macéré, les folioles sont utilisées comme dépurations, fébrifuges et antianémiques au Sénégal d'après Kérharo (1974) [6]. En Côte d'Ivoire et au Burkina Faso, Kérharo et Bouquet (1950) [17], signalèrent que le décocté et le macéré des folioles sont réputés purgatifs et diurétiques.

Cependant, Anton et Duquenois (1968) [2], soulignent que les racines, bien que réputées purgatives et diurétiques, peuvent être toxiques à dose élevée et causer ainsi des coliques sévères et des vomissements.

Les racines de cassé du Sénégal sont utilisées contre la lèpre, l'éléphantiasis scrotal et la dysenterie en Afrique occidentale selon KERHARO et BOUQUET [17].

Elles y sont aussi utilisées comme toniques, aphrodisiaques et comme diurétiques dans les maladies vénériennes.

Enfin, d'après DALZIEL et OLIVIER [7], les fruits de *Cassia sieberina* sont réputés laxatifs et vermifuges en médecine traditionnelle au Nigeria et dans d'autres régions ouest-africaines.

C'est surtout la pulpe du fruit qui est utilisée.

#### IV- Rappels sur la pharmacologie

L'étude pharmacologique de la plante a permis de vérifier quelques propriétés thérapeutiques attribuées à cette dernière par la médecine traditionnelle.

- Action sur le tonus de base : au cours de son étude GUEYE [14] a observé une inhibition presque totale du tonus de base avec une concentration de 51,03mg/ml de l'extrait hydro alcoolique des racines.

Quant à FALL [11], il a trouvé une inhibition de 50,51% à une dose de 75µg/ml d'extrait total de racines.

D'ailleurs il a mis en exergue le fait que cette inhibition est plus significative avec l'extrait d'acétate d'éthyle à la même dose.

- Action antimicrobienne : les extraits de racines de *Cassia sieberiana*, d'après SILVA et al [22] ont des propriétés antimicrobiennes in vitro.

En effet, l'extrait de racine de *Cassia sieberiana* est actif sur 9 souches de *Neisseria gonorrhoeae*, y compris des souches résistantes à la pénicilline et à la tétracycline. Ceci justifie sans doute leur utilisation traditionnelle dans les maladies vénériennes.

- Action antivirale : les extraits de racines de *Cassia sieberiana*, selon SILVA et al [22] ont une action antivirale significative sur le virus HSV1 (Herpes simplex virus de type 1).

-Action spasmolytique : selon GUEYE [14], l'extrait des racines de la plante, à une concentration de  $7,5 \cdot 10^{-3}$  mg/ml entraîne une inhibition de 53,6% en moyenne des contractions provoquées par  $10^{-4}$  mg/ml d'acétylcholine sur un intestin isolé de rat.

- Toujours sur l'activité spasmodique, les travaux de FALL [11] pour les différentes fractions étudiées (acétate d'éthyle, butanolique, aqueuse résiduelle et totale) ont montré des activités réelles avec les extraits butanoliques, d'acétate d'éthyle et total.

Par contre, l'extrait aqueux résiduel n'a pas d'effet.

- Activité antiparasitaire : les travaux de GUEYE [14] montrent que l'administration de l'extrait hydro alcoolique des racines de *Cassia sieberiana* à deux lots de chiens (errants et domestiques) respectivement 1g et 500mg, permet de déceler une activité antiparasitaire aux 5<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> jour après injection.

En effet, le suivi parasitologique effectué en suivant l'évolution de la charge parasitaire des selles, au 5<sup>e</sup> jour, révèle une efficacité thérapeutique qui est de 46,2% pour le lot des chiens errants.

Au 10<sup>e</sup> jour, l'efficacité thérapeutique baisse à 38,5% à cause probablement d'une réinfection.

Par contre, le lot des chiens domestiques a donné de meilleurs résultats au traitement. C'est ainsi que l'efficacité du traitement est passée de 25% au 5<sup>e</sup> jour à 62,2% au 10<sup>e</sup> jour.

Par ailleurs, le produit est surtout efficace sur les *Trichiurus*, qui disparaissent totalement des selles des deux lots de chiens dès le 5<sup>e</sup> jour après administration de l'extrait.

- Toujours avec l'activité antiparasitaire, les travaux de SOW [23] montrent que l'administration d'extrait butanolique à une dose de 7,5mg/ml à des lapins entraîne une disparition totale des ookystes de coccidies dans les fécès au 9<sup>e</sup> jour.

**DEUXIEME PARTIE :**  
**ETUDE EXPERIMENTALE**

## **I - MATERIEL ET METHODE**

Par contrainte de temps, nous n'avons pas pu récolter plusieurs pieds de la même espèce en des lieux et des périodes différentes de l'année.

### **I -1- Récolte et Conservation des échantillons**

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles, d'écorces de tige et de racines de *Cassia seberiana* (D.C.) *Caesalpinaceae*.

La récolte a été effectuée à Niolanène, village situé dans la communauté rurale de Mbadakhouné, département de Gossas et région de Fatick le 28/03/05.

Les différentes parties (feuilles, écorces de tige et racines) ont été prélevées à partir d'un même pied.

Après séchage à l'abri des rayons du soleil au laboratoire de Pharmacognosie pendant deux semaines environ, les échantillons sont broyés à l'aide d'un broyeur de marque Brabender. C'est à partir de ces échantillons réduits en poudre, que nous avons effectué des recherches des différents groupes chimiques.

### **I-2- Matériel et réactifs utilisés**

#### **I-2-1-Matériel**

Broyeur de marque Brabender

Soxhlet de 1000ml

Rotavapor de marque Buchi 461

Bain-marie

Ampoules à décanter de 1000ml

Ballon rodé de 250ml

Eprouvette de 100ml

Balance de marque Sartorius

Capsules en verre

Pipettes de 5ml et 50ml

Micro pipettes

Papier pH

Plaques de silice et de cellulose 20x20cm ; 20x10cm

Spectrophotomètre Master screener

### **I-2-2- Réactifs**

Acétate d'éthyle

Acide chlorhydrique concentré

Acide sulfurique

Acétate de magnésium à 0,05% dans du méthanol

Ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH)

n-Butanol

Carbonate de sodium à 5%

Chloroforme

Chlorure d'aluminium

Chlorure ferrique à 10%

Dichlorométhane

Ethanol 90°

Méthanol

### **I-3-Méthode d'étude**

#### **I-3-1-Screening phytochimique**

##### **I-3-1-1-Recherche des Alcaloïdes [14]**

Dans 1g de poudre (feuilles, écorces de tige et racines) on verse 15ml d'acide sulfurique à 10%. La solution obtenue est agitée puis laissée reposer pendant 30mn avant filtration.

Dans 3 tubes à hémolyse sont introduits 1ml de la solution extractive aqueuse sulfurique.

Nous avons ajouté 2 à 3 gouttes de réactif de :

-Bouchardat (solution iodo-iodurée de potassium) dans le tube **1**

-Draggendorf (solution iodo-bismuthite de potassium) dans le tube **2**

-Valser-Mayer (solution iodo-mercuri-iodate de potassium) dans le tube **3**

La réaction est positive si on observe dans :

-tube **1** : un précipité brun

-tube **2** : un précipité orange à rouge vermillon

-tube **3** : un précipité blanc –jaunâtre

### **I-3-1-2-Recherche des hétérosides anthracéniques [14]**

#### **-Extraction par la réaction de Bornträger :**

25mg de poudre (feuilles, écorces de tige et racines) sont mélangés avec 20ml d'eau distillée et 1ml d'acide chlorhydrique concentré. L'ensemble est porté au bain-marie bouillant pendant 15mn. Après refroidissement, une filtration est effectuée puis on extrait les hétérosides avec 10ml de chloroforme dans une ampoule à décanter.

#### **-Caractérisation**

Pour cela, il faut agiter d'abord le mélange, et la solution est laissée reposer avant de récupérer la phase chloroformique.

La solution chloroformique est évaporée à sec et le résidu obtenu est mélangé avec 2ml d'ammoniaque au ½.

La réaction est positive si on note une coloration jaune qui vire au rouge après chauffage au bain-marie.

### **I-3-1-3-Recherche des hétérosides flavoniques]26]**

#### **-Extraction**

Les flavonoïdes sont extractibles par de l'alcool ou par l'eau chaude. 10g de poudre (feuilles, écorces de tige et racines) sont mélangés avec 150ml d'eau distillée et 1g de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ). Le mélange obtenu est porté à ébullition pendant 30mn.

Après refroidissement, le mélange est filtré.

#### **-Caractérisation**

La caractérisation des flavonoïdes se fait soit en milieu alcalin, soit par le perchlorure de fer soit par la réaction de la cyanidine qui est la réaction de référence.

##### ➤ **coloration en milieu alcalin**

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun. A 2 ml de la solution extractive, nous avons ajouté 2ml d'une solution de soude au  $1/10^{\circ}$ . L'apparition d'une coloration jaune orange indique la présence de flavonoïdes.

##### ➤ **coloration par le perchlorure de fer**

Les flavonoïdes du fait de la présence des fonctions phénoliques dans leur génine, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de  $\text{FeCl}_3$ . A quelques ml de la solution extractive, ajouter 2 à 3 gouttes de la solution diluée de  $\text{FeCl}_3$  donne une coloration verdâtre.

##### ➤ **Réaction de la cyanidine**

En solution alcoolique, en présence d'hydrogène naissant produit in-situ par de l'acide chlorhydrique sur le magnésium, les flavonoïdes donnent des colorations variées allant du rouge orange au violet.

A 2ml de la solution extractive, 2ml d'alcool chlorhydrique sont introduits et quelques fragments de magnésium, une coloration rose puis rouge se développent en présence des flavonoïdes.

#### **I-3-1-4- Recherche des Tanins [26]**

##### **-Extraction**

Dans 5g de poudre (feuilles, écorce de tige et racines) 50ml d'eau bouillante sont versés et le mélange obtenu est infusé pendant 30mn. Ensuite nous avons procédé à la filtration.

Les tanins peuvent être mis en évidence par le chlorure ferrique ou l'acide phosphotungstique.

Ces deux types de réaction ne permettent cependant pas de faire la différenciation des tanins. Celle-ci est possible grâce à des réactions :

- précipitation par le réactif de stiasny
- oxydation des tanins condensés.

##### **- caractérisation par le chlorure ferrique**

A 5ml du filtrat, ajouter 2ml de chlorure ferrique à 2% suivie d'une agitation. S'il y a la présence de tanins, une coloration brun vert se développe.

##### **-caractérisation par l'acide phosphotungstique**

Nous avons procédé à la dilution du filtrat au 1/10<sup>e</sup> en ajoutant 9ml d'eau distillée à 1ml d'extrait. De cette dilution, 1ml a été prélevé puis mélangé avec 1ml d'acide phosphotungstique en y ajoutant 9ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 25%.

En présence de tanins, il y a apparition d'une coloration bleue du mélange.

### **-Différenciation des tanins**

#### ➤ Précipitation par le réactif de Stiasny

Les tanins condensés précipitent à chaud par addition à l'infusé du réactif de Stiasny ( formaldéhyde chlorhydrique).

Dans le filtrat (racines, écorces de tige et feuilles), il est possible de mettre en évidence les tanins hydrolysables par addition de  $\text{FeCl}_3$  à 2%.

8 ml de filtrat, est mélangé avec 4 ml du réactif de Stiasny.

Après chauffage à ébullition au bain-marie pendant 30mn, la présence de précipité atteste la présence de tanins condensés.

Ensuite, la solution est filtrée pour récupérer le liquide surnageant.

1ml du filtrat est saturé par l'acétate de sodium puis on ajoute quelques gouttes de la solution de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu noir indique la présence de tanins hydrolysables, non précipités par le réactif de Stiasny.

### **I-3-1-5-Recherche des saponosides [26]**

#### **-Extraction des saponosides**

Extraction par décoction : Plaçons dans un erlenmeyer de 500ml 1g de poudre (feuilles, écorces de tige ou racines) et ajoutons 100ml d'eau distillée et portons à ébullition modérée pendant une ½ **heure**.

Après refroidissement, nous passons à la filtration suivie d'un ajustement de volume à 100ml.

### **-Caractérisation des saponosides par mesure de l'indice de mousse**

Dans une série de 10 tubes calibrés ( hauteurs 16cm, diamètre inférieur à 16mm) numérotés de 1 à 10 , répartis successivement 1,2,3 ,...à 10ml de décocté.

Dans chaque tube on ajuste à 10ml le volume par addition d'eau distillée.

Puis le tube est agité vigoureusement pendant 15 secondes dans le sens de la longueur en raison de 2 agitations par seconde. Le mélange est laissé reposer pendant 15mn puis la hauteur de la mousse est mesurée.

Le **tube X** dans lequel la hauteur de la mousse est de 1cm sert de base de détermination de l'indice de mousse.

$$I = \frac{1000}{X}$$

### **I-3-1-6-Recherche des hétérosides cardiotoniques**

#### **-Extraction des hétérosides cardiotoniques**

Introduire la poudre (racines, écorces de tige ou feuilles) dans un tube à essai puis ajouter 5ml de mélange chloroformique /éthanol (4/1 v/v).

Le mélange obtenu est macéré pendant une ½ **heure** en agitant de temps en temps. Enfin on filtre.

#### **-Caractérisation des hétérosides cardiotoniques**

Le filtrat est réparti dans 3 tubes à hémolyse.

**Tube 1** : 0,5ml de réactif de Baljet (acide picrique, 1g/100ml d'éthanol)

**Tube 2** : 0,5ml de réactif de Kedde (acide dinitro-3-5- benzoïque, 1g/100ml de méthanol)

**Tube3** : 0,5ml de réactif de Raymond-Marthond (M-dinitro benzène, 1g/100ml d'éthanol)

Dans chaque tube nous avons ajouté 2 gouttes de lessive de soude diluée au 1/5<sup>e</sup>. La solution est agitée vigoureusement et le pH alcalin est ajusté.

Si les colorations suivantes sont obtenues, les résultats sont positifs :

Tube 1 : rouge-orange stable

Tube 2 : rouge pourpre stable

Tube 3 : violet fugace

### **I-3-2-Etude comparative des composants des différents extraits par CCM**

#### **I-3-2-1-Rappel des principes de base sur la chromatographie**

La chromatographie est une technique analytique de séparation très efficace et élaborée, découverte au début du XX<sup>e</sup> siècle. Elle permet la séparation de constituants d'un mélange en phase homogène liquide ou gazeux.

Le principe repose sur un déplacement différentiel des produits à séparer, dans un système constitué de deux : une phase stationnaire et une phase mobile.

Les constituants du mélange à séparer parcourent la phase stationnaire avec une vitesse proportionnelle à leur polarité et à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure). Ils sont échangés entre les deux phases.

### **I-3-2-2-Méthode d'extraction [11,23]**

200g de poudre (racines, écorces de tige et de feuilles) sont extraits au soxhlet pendant 9 heures par de l'éthanol à 90°.

L'extrait éthanolique est ensuite concentré au Rotavapor jusqu'à l'obtention d'un résidu pâteux.

L'extrait mou ainsi obtenu est repris dans de l'eau chaude pour donner un extrait aqueux total d'un volume de 300ml. Après refroidissement, le mélange obtenu est filtré.

Cet extrait aqueux est épuisé trois fois de suite par 100ml d'acétate d'éthyle. Les 300ml de la phase d'acétate d'éthyle sont réunis et évaporés à sec.

La phase aqueuse est de nouveau épuisée à trois reprises par 50ml de butanol pour donner une phase butanolique qui sera évaporée à sec. La phase aqueuse résiduelle est aussi concentrée à sec. Un aliquote de chacun de ces trois extraits est repris dans du méthanol pour effectuer la chromatographie sur couche mince.



### **I-3-2-3-CCM des hétérosides anthracéniques**

Pour la chromatographie des anthracènes, nous avons utilisé deux plaques :  
-sur la première, nous avons déposé des solutions d'extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle de feuille, d'écorce de tige et de racine  
-sur la deuxième plaque, nous avons déposé des solutions d'extraits butanoliques d'écorce de racine et de bois de racine.

#### **Iere chromatographie**

Support : nature : plaque de silice

Dimension : LxLxe : 20x20x 0,025cm

Solvant de migration : éther de pétrole	—————>	4
: Acétate d'éthyle	—————>	1 (v/v)
: Acide acétique	—————>	1

Dépôts : solutions d'acétate d'éthyle :

Extrait de feuille

Extrait d'écorce de tige

Extrait de racine entière

Solutions butanoliques de :

Extrait de feuille

Extrait d'écorce de tige

Extrait de racine entière

Témoins : Aléo-émodine ;Rhéine

Révélateur :Après chauffage à l'étuve à 100°C, la plaque est pulvérisée avec une solution d'acétate de magnésium à 0,05% dans du méthanol.

Après révélation, la présence des dérivés anthracéniques est mise en évidence par des spots de couleur rouge-orangé visibles à l'œil nu.

## **2<sup>e</sup> chromatographie**

Dépôts : solutions aqueuses de :

Extrait d'écorce de racine

Extrait de bois de racine

Solutions butanoliques de :

Extrait d'écorce de racine

Extrait de bois de racine

Témoins : Aloe-émodine ; Rhéine ; chysophanol

Révélateur : nous avons utilisé le même révélateur que précédemment.

## **I-3-2-4-CCM des hétérosides flavoniques**

Pour les flavonoïdes, nous avons effectué 4 chromatographies sur couche mince à l'aide des plaques de cellulose de même dimension.

### **1<sup>ère</sup> chromatographie**

Support : nature : cellulose

Dimensions : Lxlxe :20x5x0,010cm

Solvant de migration : acide acétique → **15** (v/v)

Eau → **85**

Dépôts : solution d'acétate d'éthyle d'extrait de racine

: Solutions butanoliques d'extraits d'écorce de tige et de racine

Révélateur : la plaque est introduite dans l'étuve à 100°C pendant 5mn.

Après chauffage, elle est pulvérisée avec une solution de chlorure d'aluminium à 5% dans le mélange eau-éthanol (1-1v/v).

L'observation à la lampe UV 360nm révèle des spots de coloration jaunâtre qui attestent la présence des flavonoïdes.

## 2<sup>e</sup> chromatographie

Dépôts : extraits d'acétate d'éthyle de feuille, de tige et de racine

Pas de témoin

Révéléteur : le même révélateur est utilisé que précédemment.

## 3<sup>e</sup> chromatographie

Dépôts : Extraits d'acétate d'éthyle de feuille, de tige et de racine

Pas de témoin

Révéléteur : la même solution est utilisée

## 4<sup>e</sup> chromatographie

Dépôts : solutions butanoliques d'extraits d'écorce et de bois de racine.

Témoin : quercétine

Révéléteur : le chlorure d'aluminium à 5% après chauffage à l'étuve durant 5mn.

## I-3-2-5-CCM des tanins

Support : plaque de silice

Dimensions : lxlxe :20x20x0,25cm

Solvant de migration : acétate d'éthyle → 7

Méthanol → 13 (v/v)

Eau → 10

Dépôts : solutions d'extraits butanoliques de feuille, d'écorce de tige et de racine

Solutions d'extraits d'acétate d'éthyle de feuille, d'écorce de tige et de racine entière

Témoins : acide tannique

Révélateur : Après chauffage à l'étuve à 100°C, la plaque est pulvérisée avec une solution de chlorure ferrique à 2%.

Par simple observation à l'œil nu, il est possible de voir des spots de couleur bleu-noire qui illustre la présence des tanins.

### **I-3-3-Dosage des hétérosides anthracéniques et des flavonoïdes**

#### **I-3-3-1-Dosage des hétérosides anthracéniques [18]**

**Principe :** c'est un dosage colorimétrique reposant sur la réaction de BORNTRAEGER. Cette réaction n'étant totale qu'avec les formes libres oxydées, il sera alors nécessaire de réaliser une hydrolyse pour libérer les génines et une oxydation pour les amener sous forme quinonique.

Le dosage est un dosage spectrophotométrique à 500nm.

Le résultat est exprimé en pourcentage de génines.

#### **Technique :**

Peser avec précision 2g de drogue poudre ( de racine, d'écorces de tige et de feuille de *Cassia sieberiana*) : introduire chacune de ces prises d'essai dans un ballon rodé de 250ml surmonté d'un réfrigérant à reflux .

Ajouter 40ml d'eau distillée, chauffer 15mn au bain-marie bouillant, refroidir et filtrer.

Refaire l'extraction avec 40ml d'eau distillée puis réunir les deux filtrats dans une fiole jaugée de 100ml et compléter le volume à 100ml avec de l'eau distillée.

#### **Dosage**

Prélever à la pipette 10ml exactement de filtrat, les introduire dans un ballon rodé de 250ml, ajouter 20ml de FeCl<sub>3</sub> à 10% ; ajuster le pH de la solution à 7-8 en ajoutant 0,2ml de NaOH ; bien mélanger, chauffer 20mn au bain-marie bouillant sous reflux.

- Introduire 1ml de HCl concentré dans le ballon, bien mélanger soigneusement.
- Chauffer de nouveau 20mn au bain-marie bouillant sous reflux en agitant.
- Après refroidissement, transvaser quantitativement le contenu du ballon dans une ampoule à décanter.
- Epuiser la solution à 3 reprises par 25ml de  $\text{CH}_2\text{-Cl}_2$  qui auront servi au préalable à rincer le ballon.
- Chaque fraction de  $\text{CH}_2\text{-Cl}_2$  est lavée dans une ampoule à décanter par 25ml d'eau distillée.
- Réunir la totalité des phases organiques dans un ballon de 100ml.
- Evaporer l'extrait de  $\text{CH}_2\text{-Cl}_2$  à sec à l'évaporateur rotatif à  $60^\circ\text{C}$ .
- Introduire dans le ballon contenant le résidu 3ml de solution d'acétate de magnésium à 10% dans le méthanol.
- Transvaser le contenu du ballon dans une fiole jaugée de 10ml ; rincer le ballon avec 2x3ml de solution d'acétate de magnésium à 10% et réunir ces dernières solutions dans la fiole jaugée et compléter le volume à 10ml.
- Mélanger par retournement la fiole jaugée puis mesurer immédiatement la densité optique au spectrophotomètre à 500nm en utilisant comme blanc le méthanol.
- Lire la concentration en génines correspondante sur une courbe d'étalonnage obtenue avec le chrysophanol.

#### Etablissement de la courbe d'étalonnage

Préparer une solution mère de chrysophanol à  $40\mu\text{g/ml}$  ; peser exactement 4mg de chrysophanol, ajouter 10ml de solution d'acétate de magnésium alcoolique à 10% puis prélever 1ml de cette solution et ajouter 10ml d'acétate de magnésium à 10%.

**Tableau 2 : Dilution de l'étalon des anthracènes**

<b>N° Fiole jaugée de 10ml</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Solution mère de chrysophanol (ml)</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>	<b>1.25</b>	<b>1.5</b>
<b>Compléter à 10ml avec le méthanol (ml)</b>	<b>9.75</b>	<b>9.5</b>	<b>9.25</b>	<b>9</b>	<b>8.75</b>	<b>8.5</b>
<b>Concentration (µg/ml)</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Absorbance</b>	<b>?</b>	<b>?</b>	<b>?</b>	<b>?</b>	<b>?</b>	<b>?</b>

Le résultat est exprimé en pourcentage de génines contenu dans la prise d'essai, calculer grâce à la teneur en génines lue sur la courbe d'étalonnage selon la relation :

$$P = \frac{C \times 10^{-2}}{X}$$

**P** : pourcentage de génines contenu dans la prise d'essai (g %)

**C** : concentration lue sur la courbe d'étalonnage (µg/ml)

**X** : prise d'essai (g)

### **I-3-3-2-Dosage des flavonoïdes [26]**

Nous avons utilisé la méthode de **Duret et Paris**

#### **-Principe**

Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur jaune. L'intensité de cette coloration est estimée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340nm

#### **-Technique**

5g de poudre de feuille, de tige et de racine dissous dans 100ml d'éthanol bouillant en présence de 0,5g de carbonate de calcium

(CaCO<sub>3</sub>).L'ensemble est maintenu en ébullition sous reflux pendant 30mn.

Après décantation une seconde extraction est effectuée par le méthanol dans les mêmes conditions pour extraire tous les flavonoïdes (extraction quantitative).

Les deux extraits sont réunis et évaporés à sec. Ce résidu est repris par le mélange méthanol-eau (3-1v/v) puis filtrer sur papier avant d'ajuster à 20ml par le mélange méthanol-eau (3-1v/v).

A 1ml de ce filtrat, 1ml du mélange méthanol-eau (3-1v/v) est ajouté.

1ml de cette dernière solution est diluée dans 25ml de méthanol et à 2ml de cette solution, on ajoute successivement 3ml de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2,5% dans l'eau, 5ml d'une solution aqueuse d'acétate de sodium à 10%, on ajuste à 25ml par le mélange méthanol-eau (3-1v/v). La solution est homogénéisée par agitation. Ensuite le reste de la réaction a eu lieu dans l'obscurité.

### **Etablissement de la gamme d'étalonnage**

La gamme d'étalonnage ayant subi le même traitement est faite avec une solution mère constituée de 2mg de quercétine dissous dans 100ml de méthanol. Une série de dilution est réalisée à partir de cette solution mère pour l'étalonnage de la gamme d'étalon (voir tableau 3) et les concentrations sont exprimées en mg de quercétine.

La lecture de la densité optique se fait au bout de 40mn à 340nm avec un blanc constitué d'eau distillée.

**Tableau 3 : dilution de l'étalon des flavonoïdes**

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>Volume (ml) de la solution mère de quercétine à 20mg/l</b>	<b>0</b>	<b>0.5</b>	<b>1</b>	<b>1.5</b>	<b>2</b>	<b>2.5</b>	<b>3</b>
<b>Volume (ml) d'eau ajusté à 20ml</b>	<b>20</b>	<b>19.5</b>	<b>19</b>	<b>18.5</b>	<b>18</b>	<b>17.5</b>	<b>17</b>
<b>Concentration en mg/l de quercétine</b>	<b>0</b>	<b>0.5</b>	<b>1</b>	<b>1.5</b>	<b>2</b>	<b>2.5</b>	<b>3</b>

## II- RESULTATS

### II-1- Résultats du Screening phytochimique

Après avoir effectué le screening phytochimique avec les tests de caractérisations des différents groupements chimiques (anthracènes, aux tanins, aux flavonoïdes ect...) nous avons obtenu les résultats qui sont consignés sur le tableau récapitulatif ci-dessous.

**Tableau 4 : Récapitulatif de la caractérisation des principes actifs**

Dérivés	Anthracénosides	Flavonoïdes	Tanins condensés	Alcaloïdes	Cardiotonines
Feuilles	+	+	+	-	-
Ecorces de tige	+	+	+	-	+
Racines entières	+	+	+	-	+

**+ : test positif**

**- : test négatif**

La mise en évidence des saponosides a donné les résultats consignés dans le tableau suivant :

**Tableau 5 : mise en évidence des saponosides**

Organe de la plante utilisé	Indice de mousse (I)
Feuilles	100
Ecorces de tige	100
Racines entières	100

## II-2-Résultats des extraction

Tableau 6 : Calcul de rendements de l'extrait de feuille

Nature des extraits	Extrait sec	Résidu sec d'acétate d'éthyle	Résidu sec butanolique	Résidu sec de la phase aqueuse
Poids (g)	33	1	3	4
Rendement par rapport à la prise initiale	16,5	0,5	1,5	2
Rendement des fractions par rapport à l'extrait sec		3	9	12

Tableau 7 : Calcul de rendements de l'extrait d'écorce de tige

Nature des extraits	Extrait sec total	Résidu sec d'acétal d'éthyle	Résidu sec butanolique	Résidu sec de la phase aqueuse
Poids (g)	25	3	2	3
Rendement par rapport à la prise initiale	12,5	1,5	1	1,5
Rendement des fractions par rapport à l'extrait sec (%)		12	8	12

**Tableau 8 : Calcul des rendements de l'extrait de racines entières**

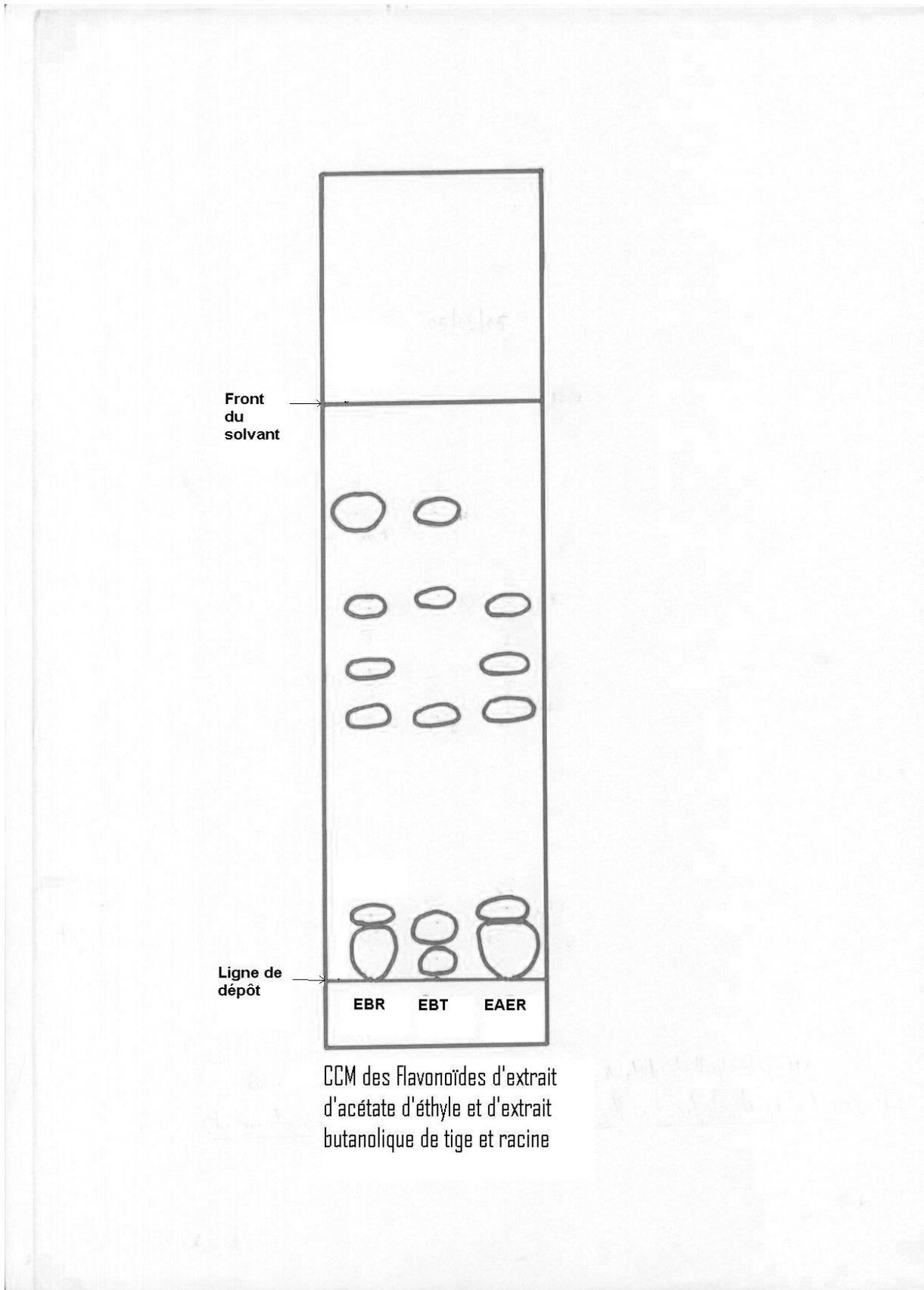
<b>Nature des extraits</b>	<b>Extrait sec total</b>	<b>Résidu sec d'acétate d'éthyle</b>	<b>Résidu sec butanolique</b>	<b>Résidu sec de la phase aqueuse résiduelle</b>
<b>Poids (g)</b>	<b>23,5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>Rendement par rapport à la prise initiale</b>	<b>11,7</b>	<b>2,5</b>	<b>1,5</b>	<b>1,5</b>
<b>Rendement des fractions par rapport à l'extrait sec (%)</b>		<b>21,4</b>	<b>12,8</b>	<b>12,8</b>

### **II-3- Résultats des essais de caractérisations par CCM**

#### **II-3-1- Les flavonoïdes**

Pour les flavonoïdes, nous avons effectué 4 chromatographies différentes avec les échantillons dont nous disposons.

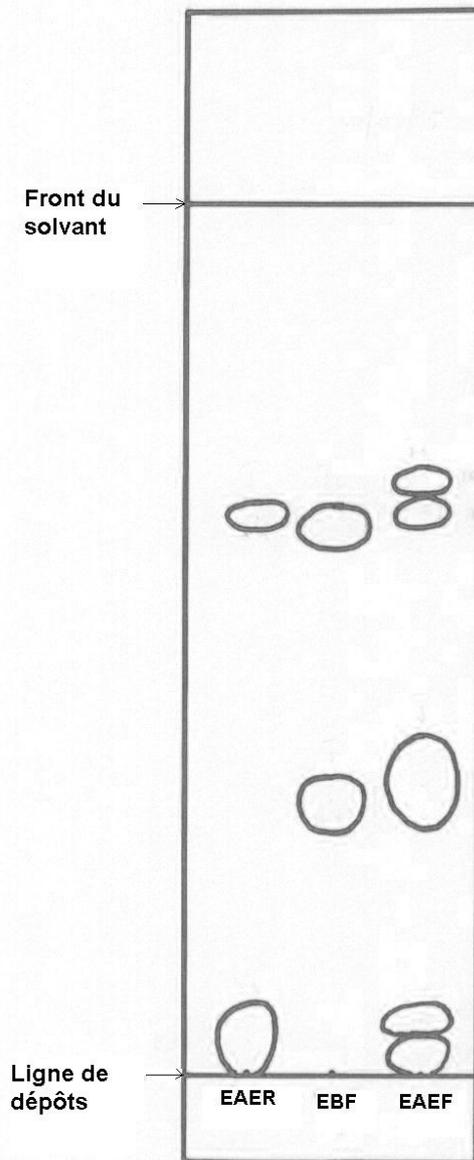
Les résultats obtenus se présentent comme suit :



**Figure 3 :** **EBR** : extrait butanolique de racine, **EBT** : extrait butanolique d'écorce de tige **EAER** : extrait d'acétate d'éthyle de racine

**Tableau 9 : Rf spots obtenus après CCM des flavonoïdes**

<b>Dépôts</b>	<b>Rf des Spots x100</b>	<b>Fluorescence UV 366nm</b>
<b>Extrait butanolique de racine</b>	<b>5</b>	<b>Violette</b>
	<b>11</b>	<b>Violette</b>
	<b>47</b>	<b>Jaune</b>
	<b>55</b>	<b>Jaune</b>
	<b>66</b>	<b>Jaune</b>
<b>Extrait butanolique d'écorce de tige</b>	<b>4</b>	<b>Violette</b>
	<b>10</b>	<b>Violette</b>
	<b>45</b>	<b>Jaune</b>
	<b>66</b>	<b>Jaune</b>
	<b>81</b>	<b>Jaune</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de racine</b>	<b>7</b>	<b>Violette</b>
	<b>4</b>	<b>Violette</b>
	<b>45</b>	<b>Jaune</b>
	<b>54</b>	<b>Jaune</b>
	<b>65</b>	<b>Jaune</b>
	<b>81</b>	<b>jaune</b>

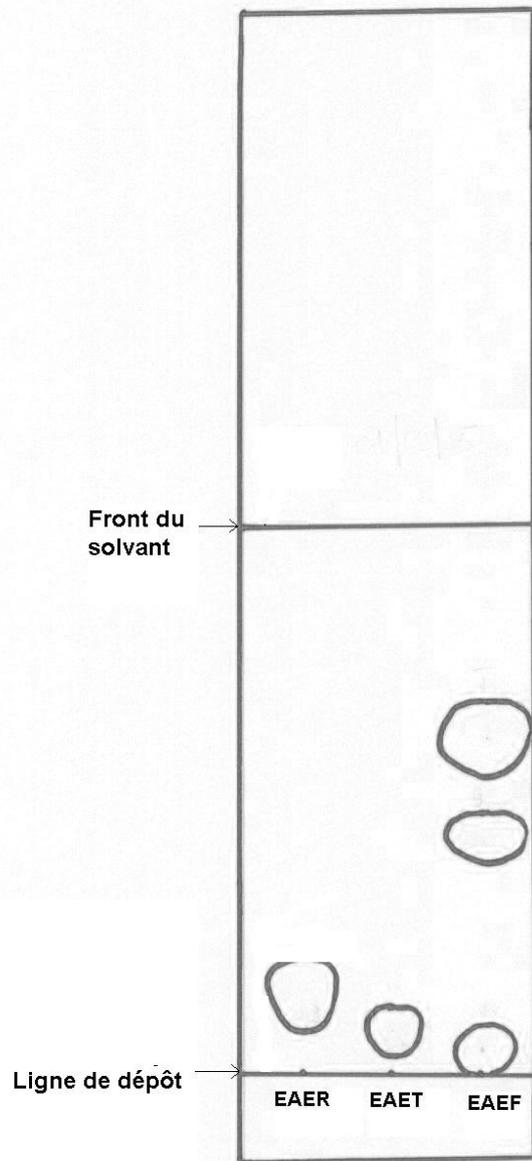


CCM des Flavonides  
 d'extrait d'acétate d'éthyle  
 de racine, d'extrait  
 butanolique de feuille et  
 d'extrait d'acétate d'éthyle  
 de feuille

**Figure 4 :** EAER : extrait d'acétate d'éthyle de racine, EBF : extrait butanolique de feuille EAEF : extrait d'acétate d'éthyle de feuille

**Tableau 10: Rf et couleurs obtenus après CCM des flavonoïdes d'extraits d'acétate d'éthyle ( racine et feuille) et butanolique de feuille**

<b>Dépôts</b>	<b>Rf des spots x100</b>	<b>Fluorescence UV 366nm</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de racine</b>	<b>1</b>	<b>Violette</b>
	<b>6</b>	<b>Violette</b>
	<b>33</b>	<b>Jaune</b>
	<b>64</b>	<b>Jaune</b>
	<b>68</b>	<b>Jaune</b>
<b>Extrait butanolique de feuille</b>	<b>31</b>	<b>Jaune</b>
	<b>63</b>	<b>Jaune</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de feuille</b>	<b>3</b>	<b>Violette</b>
	<b>64</b>	<b>Jaune</b>

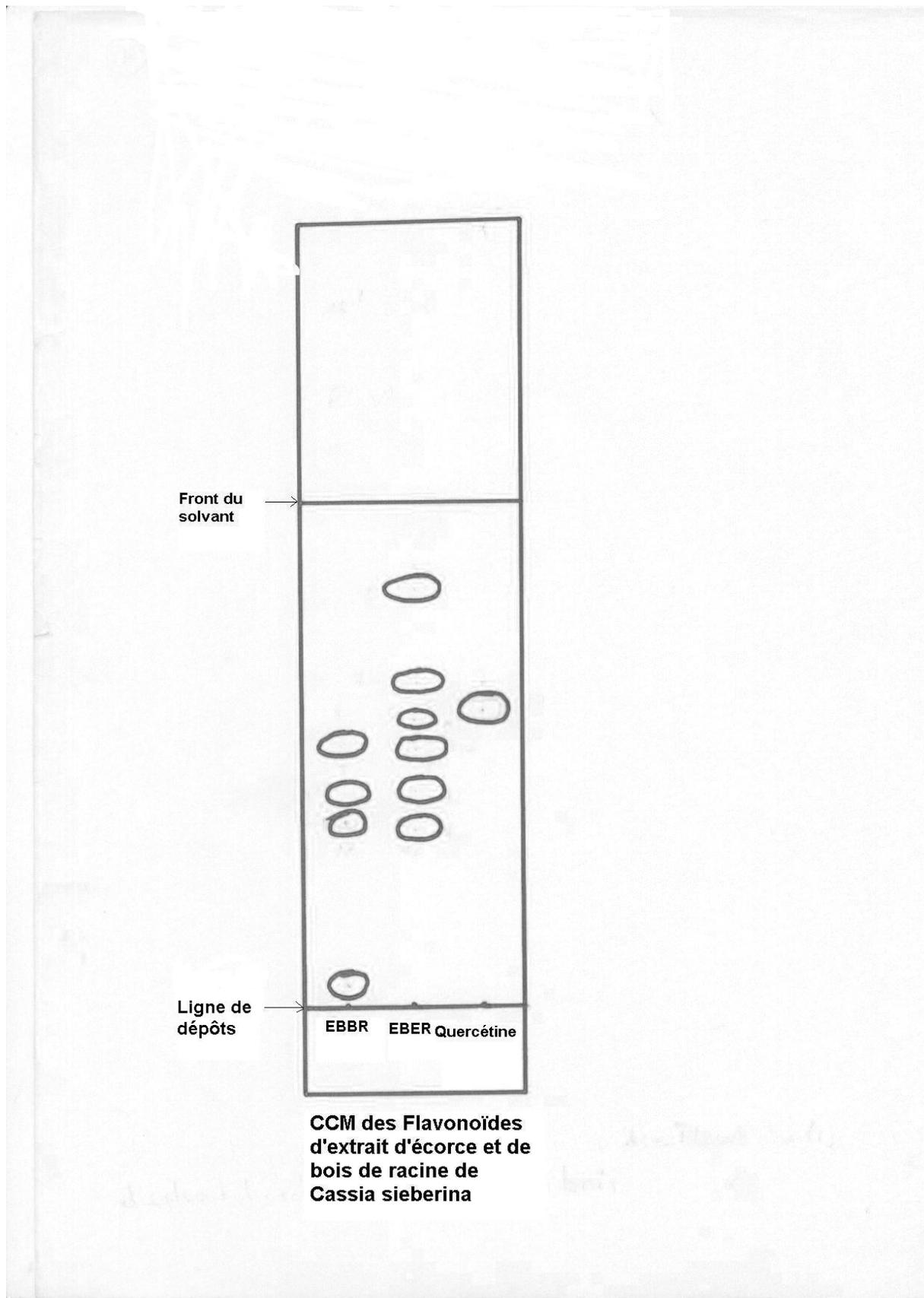


CCM des Flavonoïdes d'extrait d'acatate d'éthyle de racine, de tige et de feuille

**Figure 5 :** **EAER :** extrait d'acétate d'éthyle de racine, **EAET :** extrait d'acétate d'éthyle d'écorce de tige, **EAEF :** extrait d'acétate d'éthyle de feuille

**Tableau 11 : Rf et couleurs obtenus après CCM des flavonoïdes d'extraits d'acétate d'éthyle de racine, d'écorce de tige et de feuille**

<b>Dépôts</b>	<b>Rf des Spots x 100</b>	<b>Fluorescence UV 366nm</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de racine</b>	<b>9</b>	<b>Violette</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle d'écorce de tige</b>	<b>7</b>	<b>Violette</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de feuille</b>	<b>5</b>	<b>Violette</b>
	<b>42</b>	<b>Jaune</b>
	<b>61</b>	<b>Jaune</b>



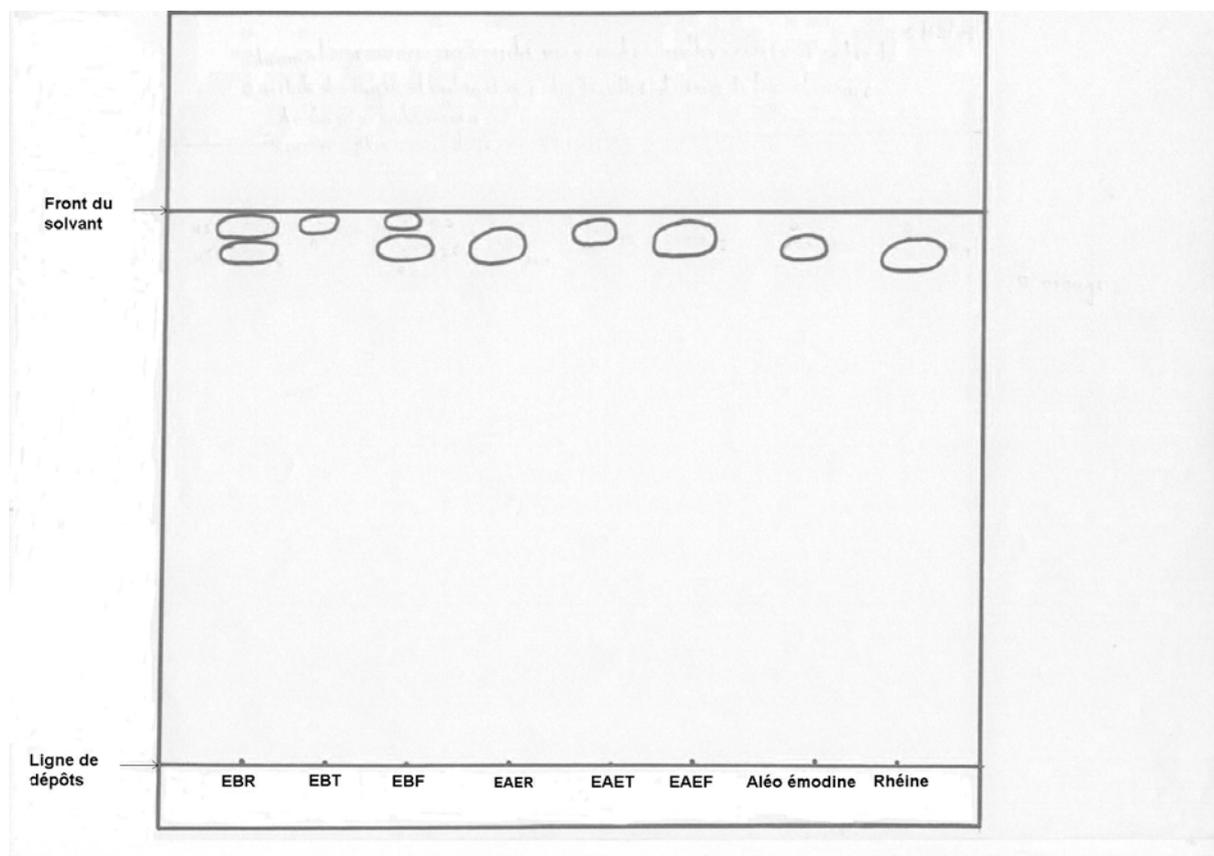
**Figure6** : **EBBR** : extrait butanolique bois de racine, **EBER** : extrait butanolique écorce de racine **Quercetine** : témoin

**Tableau 12 : Rf et couleurs obtenus après CCM des flavonoïdes butanoliques d'écorce et bois de racine**

<b>Dépôts</b>	<b>Rf des Spots x 100</b>	<b>Fluorescence UV 366nm</b>
<b>Extrait butanolique de bois de racine</b>	<b>4 36 42 52</b>	<b>Violette Vert clair Jaune Jaune</b>
<b>Extrait butanolique d'écorce de racine</b>	<b>35 39 49 56 64 83</b>	<b>Vert-clair Jaune Jaune Jaune Jaune Jaune</b>
<b>quercétine</b>	<b>58</b>	<b>jaune</b>

## II-2-2- Les dérivés anthracéniques

Avec les anthracènes nous avons fait deux essais de chromatographie dont les résultats sont les suivants :

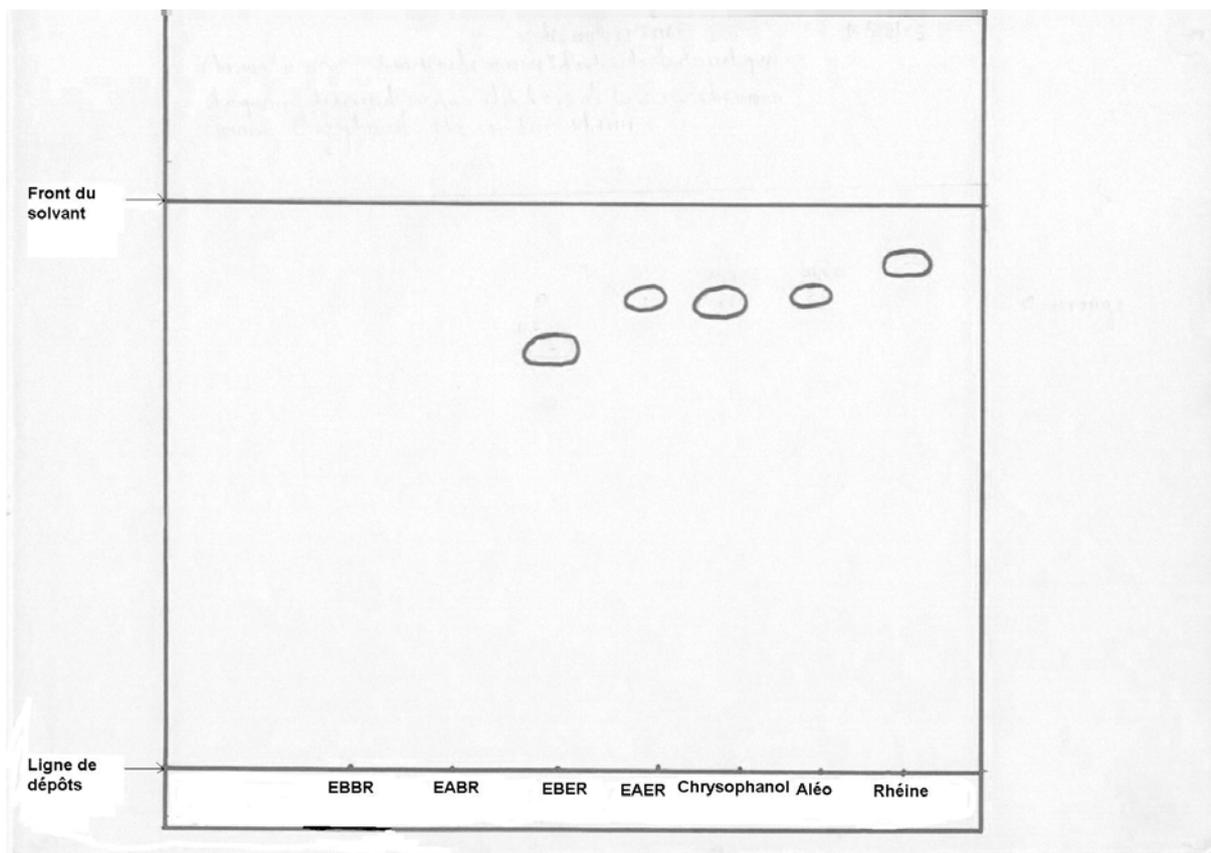


**Figure7 : CCM des dérivés anthracéniques d'extraits butanolique et d'acétate d'éthyle de racine, d'écorce de tige et de feuille avec Aléo et Rhéine comme témoins**

**EBR** : extrait butanolique de racine, **EBT** : extrait butanolique de tige, **EBF** : extrait butanolique de feuille, **EAER** : extrait d'acétate d'éthyle de racine, **EAET** : extrait d'acétate d'éthyle d'écorce de tige, **EAEF** : extrait d'acétate d'éthyle de feuille

**Tableau 1 3 : Rf et couleurs obtenus après CCM des anthracènes d'extraits d'acétate d'éthyle (feuille, écorce de tige et racine) et butanolique**

<b>Dépôts</b>	<b>Rf des Spots x 100</b>	<b>Couleur des spots</b>
<b>Rhéine</b>	<b>92</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Aléo-émodyne</b>	<b>93</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de feuille</b>	<b>97</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle d'écorce de tige</b>	<b>96</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait d'acétate d'éthyle de racine</b>	<b>94</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait butanolique de feuille</b>	<b>92</b> <b>97</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait butanolique d'écorce de tige</b>	<b>97</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait butanolique de racine</b>	<b>92</b> <b>97</b>	<b>Rouge-orangée</b>



**Figure 8 : CCM des dérivés anthracéniques des extraits butanolique et aqueux d'écorce et bois de racine avec comme témoins chrysophanol, aléo et rhéine**

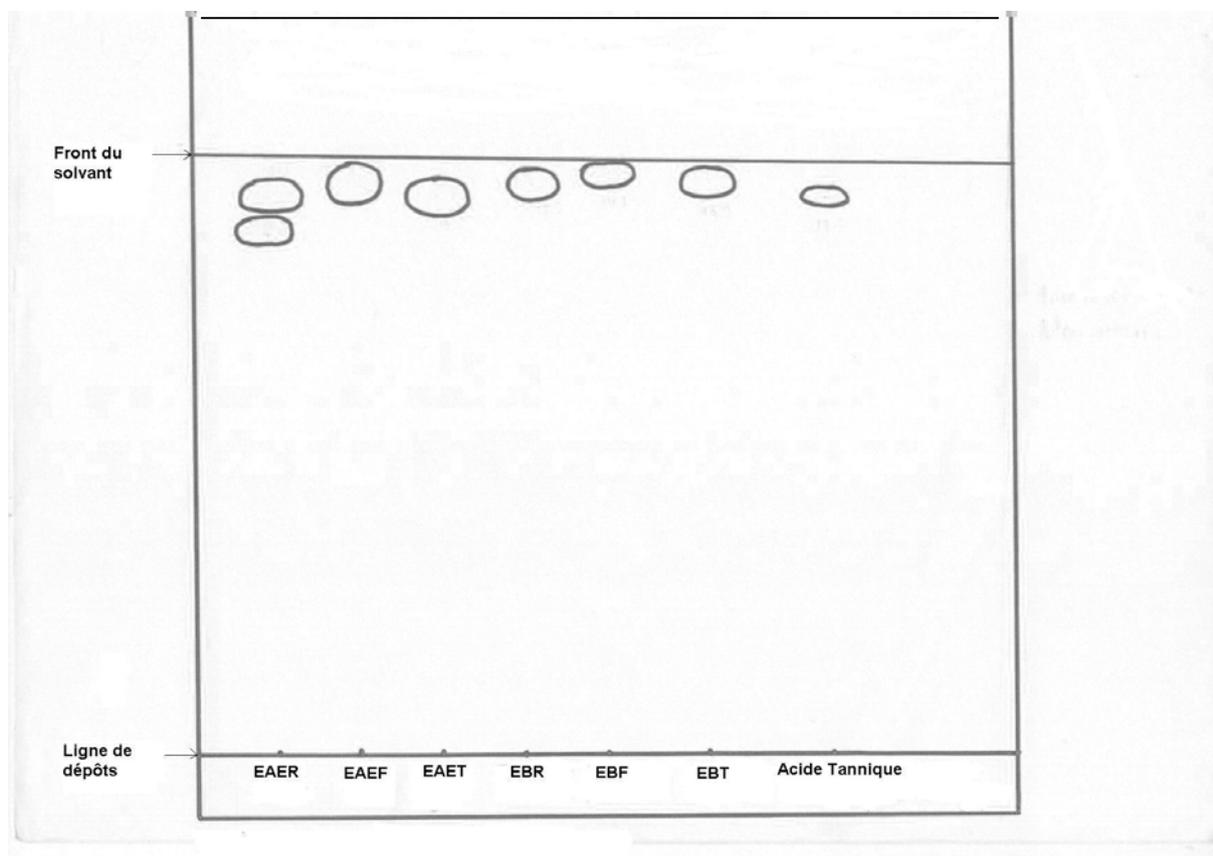
**EBBR** : extrait butanolique bois de racine, **EABR** : extrait aqueux bois de racine

**EBER** : extrait butanolique écorce de racine, **EAER** : extrait aqueux écorce de racine

**Tableau 14 : Rf et couleurs obtenus après CCM des anthracènes d'extraits aqueux et butanolique d'écorce et bois de racine**

<b>Dépôts</b>	<b>Rf des Spots x 100</b>	<b>Couleurs des spots</b>
<b>Rhéine</b>	<b>89</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Aléo-émidine</b>	<b>84</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Chrysophanol</b>	<b>82</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait aqueux écorce de racine</b>	<b>83</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait butanolique Ecorce de racine</b>	<b>74</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait butanolique bois de racine</b>	<b>-</b>	<b>Rouge-orangée</b>
<b>Extrait aqueux bois de racine</b>	<b>-</b>	<b>Rouge-orangée</b>

## II-2-3- CCM des composés tanniques



**Figure 9 : CCM des tanins des extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de racine, d'écorce de tige et de feuille avec comme témoin l'acide tannique**

**EAER** : extrait d'acétate d'éthyle de racine, **EAEF** : extrait d'acétate d'éthyle de feuille, **EAET** : extrait d'acétate d'éthyle de tige, **EBR** : extrait butanolique de racine,

**EBF** : extrait butanolique de feuille, **EBT** : extrait butanolique d'écorce de tige

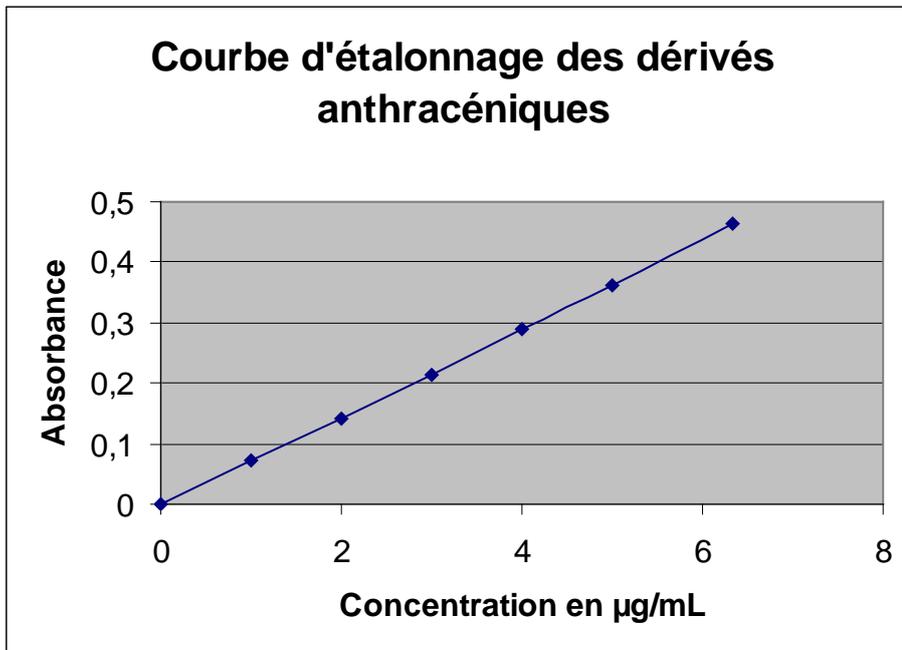
**Tableau 15 : Rf et couleurs obtenus après CCM des tanins des extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de racine, feuille et écorce de tige de *Cassia sieberina***

Dépôts	Rf des spots x 100	Couleurs des spots
Acide tannique	93	Bleu-noirâtre
Extrait d'acétate d'éthyle de racine	96	Bleu-noirâtre
Extrait d'acétate d'éthyle de feuille	97	Bleu-noirâtre
Extrait d'acétate d'éthyle écorce de tige	96	Bleu-noirâtre
Extrait butanolique de racine	94	Bleu-noirâtre
Extrait butanolique de feuille	95	Bleu-noirâtre
Extrait butanolique d'écorce de tige	93 87	Bleu-noirâtre

### II-3- Résultats des dosages des anthracènes et des flavonoïdes

**Tableau 16 : Résultats du dosage des anthracènes**

Concentration µg/ml	0	1	2	3	4	5	6
Absorbance (1 <sup>er</sup> essai)	0.00	0.073	0.143	0.219	0.289	0.355	0.472
Absorbance (2 <sup>e</sup> essai)	0.00	0.070	0.143	0.220	0.290	0.359	0.478
Moyenne	0.00	0.072	0.143	0.220	0.290	0.357	0.475



**Figure 10 : courbe étalon du dosage des anthracènes**

L'équation de droite linéaire est la suivante :

$$y = 0,072x$$

Résumé des résultats du dosage des génines anthracéniques en appliquant la formule

$$P = \frac{Cx10^{-2}}{X}$$

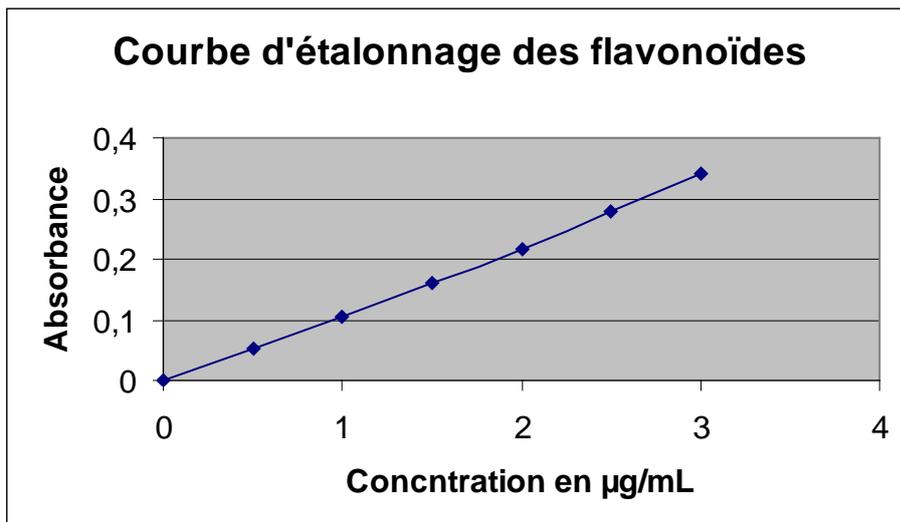
**Tableau 17 : Résumé des résultats du dosage des dérivés anthracéniques**

<b>Paramètre étudié</b>	<b>Absorbance</b>	<b>Concentration en</b>	<b>Teneur (T)</b>
<b>Partie utilisée</b>		<b>µg/ml de chrysophanol</b>	<b>en %</b>
<b>Extrait de racines entières</b>	<b>0,221</b>	<b>3,069</b>	<b>0,015</b>
<b>Extrait écorces de tige</b>	<b>0,087</b>	<b>1,208</b>	<b>0,006</b>
<b>Extrait de feuilles</b>	<b>0,168</b>	<b>2,333</b>	<b>0,012</b>
<b>Extrait écorces de racine</b>	<b>0,234</b>	<b>3,25</b>	<b>0,016</b>
<b>Extrait bois de racine</b>	<b>0,048</b>	<b>0,666</b>	<b>0,003</b>

Dans le **tableau 17** sont consignés les résultats du dosage des dérivés anthracéniques. En effet, après avoir effectué le dosage, nous avons fait la représentation graphique de la gamme étalon dont l'équation de droite permet de retrouver la concentration de chaque extrait. De plus, la teneur en dérivés anthracéniques est estimée en tenant compte de la prise initiale de chaque échantillon tout en appliquant la formule.

**Tableau 15 : des résultats du dosage des Flavonoïdes**

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>Absorbances</b>	<b>0.00</b>	<b>0.054</b>	<b>0.106</b>	<b>0.160</b>	<b>0.215</b>	<b>0.280</b>	<b>0.355</b>
<b>Concentration en quercétine mg/mL</b>	<b>0</b>	<b>0.5</b>	<b>1</b>	<b>1.5</b>	<b>2</b>	<b>2.5</b>	<b>3</b>



**Figure 11 : courbe étalon du dosage des flavonoïdes**

L'équation de la droite affine est la suivante :

$$y = 0.106x$$

$$C = \frac{A}{0.106}$$

$$Q = C \times 25 \times 2 \times 20$$

$$T = 100 \times Q / PI$$

**A** : absorbance

**C** : concentration en µg /mL

**Q** : quantité en µg

**T** : teneur en (%)

**PI** : prise initiale

**Tableau 18 : Résumé des résultats du dosage des flavonoïdes**

<b>Paramètre Etudié Partie utilisée</b>	<b>absorbance</b>	<b>Concentration en µg/ml de quercétine</b>	<b>Quantité en µg de flavonoïdes</b>	<b>Teneurs en (%)</b>
<b>Extrait de racines entières</b>	<b>0,420</b>	<b>3,9622642</b>	<b>3962,2642</b>	<b>0,079</b>
<b>Extrait d'écorces de tige</b>	<b>0,224</b>	<b>2,1132075</b>	<b>2113,2075</b>	<b>0,042</b>
<b>Extrait de feuilles</b>	<b>0,136</b>	<b>1,2830189</b>	<b>1283,0189</b>	<b>0,025</b>
<b>Extrait d'écorce de racine</b>	<b>0,180</b>	<b>1,698112</b>	<b>1698,1132</b>	<b>0,034</b>
<b>Extrait de bois de racine</b>	<b>0,140</b>	<b>1,3207547</b>	<b>1320,7547</b>	<b>0,026</b>

Dans le **tableau 19** sont consignés les résultats du dosage des flavonoïdes. Après avoir effectué le dosage des flavonoïdes, nous avons effectué la représentation graphique de la gamme étalon dont l'équation de la droite nous a permis de trouver la concentration de chaque échantillon. Par ailleurs, en tenant compte des facteurs de dilution et de la prise initiale de chaque extrait, nous avons pu calculer la teneur en flavonoïdes (voir formule).

### III- Discussion

#### III-1- Screening phytochimique

Le screening phytochimique effectué à l'aide des échantillons de feuilles, écorces de tige et de racines de *Cassia sieberiana* a révélé la présence de dérivés anthracèniques, de flavonoïdes, de tanins condensés, de saponosides et de dérivés cardiotoniques.

Cependant, les tests n'ont pas décelé la présence d'alcaloïdes comme l'avait effectivement montré GUEYE [14] dans sa thèse. Il faut souligner que l'indice de mousse trouvé pour les saponosides est très faible comparé aux valeurs trouvées par TRAORE [24] (**indice 100 contre 200**) ainsi que WANE [26] respectivement dans *Combretum micrantum* et *Cassia tora*.

#### III-2-Extraction

A l'issue des extractions effectuées sur les différents organes de *Cassia sieberiana*, les rendements obtenus se présentent comme suit : extrait total de racine : **11,7%** ; extrait total d'écorces de tige : **12,5%** ; extrait total de feuilles : **16,5%**.

GUEYE [14] qui avait travaillé sur les racines de cette même plante, avait comme rendement **32,5%**. Tandis que FALL [11] et SOW [23] ont obtenu chacun **17%**.

Etant donné que les conditions opératoires demeurent identiques et les résultats différents, nous pouvons supposer que les échantillons sur lesquels ils ont travaillé seraient plus riches en principes actifs.

De plus, il demeure important de souligner que les échantillons de l'un ou l'autre chercheur ne sont pas récoltés sur une même localité. Et ceci peut avoir

une influence sur la teneur en principes actifs si les types de sols ne sont pas les mêmes.

Après fractionnement, l'extrait d'acétate d'éthyle des racines présente le meilleur rendement **21,4% contre 12,8%** pour le résidu butanolique et le résidu aqueux.

Par contre au niveau des feuilles, c'est le résidu aqueux sec qui a le rendement le plus important de l'ordre de **12% contre 9% et 3%** respectivement pour le résidu sec butanolique et d'acétate d'éthyle.

Pour les écorces de tige, il n'y a pas de différence majeure entre les extraits d'acétate d'éthyle, aqueux résiduel et butanolique respectivement (**12% et 8%**).

### III-3- Mise en évidence des composants

Au cours de notre étude sur *Cassia sieberiana* (D, C), les composés sur lesquels nous avons poussé nos investigations sont les flavonoïdes, les anthracènes et les tanins cathéchiques.

En effet, dans les extraits de feuilles, écorces de tige et de racines, nous avons décelé la présence de dérivés anthracéniques. Ces résultats confirment les travaux précédents de VIGNOLI et BALANSARD [25] ainsi que ceux de PARIS et ETCHEPARE [19].

Dans la même lancée, nous avons visualisé la présence des flavonoïdes dans les différents organes étudiés de cette même plante. Ainsi, pour chaque dépôt effectué, nous avons plusieurs spots (**Voir tableaux 9, 10, 11 et 12**).

Certains de ces spots sont identifiables à la quercétine. Ces résultats peuvent être étayés par les travaux de PARIS et ETCHEPARE [19] qui ont mis en évidence la présence des dérivés flavoniques dans les feuilles de *Cassia sieberiana*.

Il faut noter aussi que deux profils flavoniques ont été décelés : des flavonoïdes de faible Rf (entre 4 et 11%) avec couleur violette et des flavonoïdes de couleur vert au jaune avec un Rf plus significatif.

Il en est de même pour les tanins condensés. La caractérisation nous a permis d'affirmer la présence de tanins catéchiques dans les feuilles, écorces de tige et de racines. Et ces mêmes résultats sont confirmés par la CCM car nous avons trouvé des Rf identifiables à l'acide tannique (=0,93%) (**Figure 9**).

Par ailleurs, le tableau récapitulatif de GUEYE [14] du **tableau 1** présente des tanins catéchiques dans les différents organes de la plante étudiée. Ceci permet de consolider les résultats obtenus.

#### III-4- Comparaison des CCM des extraits

Les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de feuilles, d'écorces de tige et de racines déposés sur une même plaque révèlent effectivement la présence de dérivés anthracéniques.

Par ailleurs, pour les extraits butanoliques de feuilles et de racines, il y a apparition de deux taches pour chaque dépôt. Ces taches sont identifiables soit à l'aloé-émodine, soit au rhéine (avec des Rf de **0,93%** et **0,92%**)(**Figure 7**). Ces résultats sont confirmés par les travaux précédents qu'avait effectués FALL [11].

En ce qui concerne toujours les anthracènes, nous avons effectué une séparation de la partie racinaire. Ainsi, l'écorce de racines est séparée du bois.

En effet, l'analyse par CCM (**figure 8**) donne la présence d'anthracènes uniquement dans l'écorce. Cela est dû à la faible teneur dans le bois.

Cela laisse supposer que l'écorce de racine est plus riche en dérivés anthracéniques que le bois. Mieux la solution déposée pourrait être très diluée.

### III-5 - Dosage des anthracènes et des flavonoïdes

Après analyse des résultats, il est important de noter que les feuilles, les écorces de tige et les racines contiennent des dérivés anthracéniques. Cependant, la différence se trouve dans les proportions.

C'est ainsi que les extraits de racines entières sont plus riches en dérivés anthracéniques (**0,015%**) que les feuilles (**0,012%**) de même que les écorces de tige (**0,006%**).

Si nous prenons uniquement les racines dans leur entité, nous constatons que l'écorce de la racine a une teneur en dérivés anthracéniques plus significative que le bois (**0,016%** contre **0,003%**).

En somme, nous pouvons dire que les dérivés anthracéniques sont plus présents dans les racines que les autres organes de la plante.

Par ailleurs, le même constat est fait pour les flavonoïdes. En effet, les extraits de racines entières contiennent une teneur égale à **0,079%**. Cette valeur est plus importante que celle obtenue pour les écorces de tige (**0,042%**) et les feuilles (**0,025%**). De même nous constatons que les flavonoïdes sont plus présents dans l'écorce que le bois de racine (**0,034** contre **0,026%**).

Donc à l'image des dérivés anthracéniques, les flavonoïdes sont plus présents dans les racines que les autres organes de la plante.

D'après la littérature, les études pharmacologiques ont été effectuées sur les extraits de racines entières de *Cassia sieberiana*. En comparant les teneurs des différents organes, nous constatons que les racines sont plus riches en dérivés anthracéniques. Ces derniers constituent les substances cibles du fait de leurs vertus thérapeutiques.

En effet, certains auteurs ont utilisé les extraits hydro alcooliques pour les administrer à des chiens afin de chercher les activités antiparasitaires [14]. D'autres ont utilisés des fractions butanolique et d'acétate d'éthyle pour tester

leur efficacité sur le tonus de base [11], sur les spasmes provoqués et sur les activités antiparasitaires [2 3].

Compte tenu des doses utilisés pour les études pharmacologiques par **GUEYE, FALL et SOW** et les proportions que nous avons obtenues avec les dérivés anthracéniques, il n'est pas possible d'affirmer à coup sur que les racines peuvent être remplacées par les autres organes (feuilles et écorces de tige) dans le souci de la préservation de l'espèce.

Dans la littérature, il a été montré que les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs [5]. Ces molécules ont des activités pharmacologiques multiples. En fait, ils ont une activité anti-oxydante et anti-radicalaire. On leur attribue aussi des propriétés anti-allergique, anti-inflammatoire et de lutte contre les maladies cardio-vasculaires [5].

Cependant, avec un choix approprié du lieu et de la date de récolte des échantillons mais aussi une meilleure extraction et une purification affinée des extraits, il serait possible d'avoir des teneurs plus significatives. Et ces teneurs pourraient avoisiner les doses utilisées pour les études pharmacologiques.

## **CONCLUSION GENERALE**

## **CONCLUSION GENERALE**

*Cassia sieberiana* (DC) *Caesalpiniaceae* ou *Cassia kotschyna* Oliv est une plante très connue et très appréciée dans tout le Sénégal du fait de ses multiples vertus thérapeutiques.

Il est reconnu sous diverses appellations dont les suivantes :

Français : Cassia de sieber

Wolof : sendiegne, senjen

Sérère : salé, salum

Diola : busahéit, buseit

Peulh : bosé, gama

Poular : sindia, sindiou

Malinké : Sindia

Soussou : Bangbona

D'un point de vue botanique, nous pouvons retenir que c'est un petit arbre de 8 à 10 m de hauteur et à fût court. C'est une plante caractérisée par des branches flexueuses et tombantes.

Les feuilles sont composées, paripennées, opposées, alternes et de couleur vert-foncé.

Les fleurs sont de couleur jaune or et les fruits formées de gousses cylindriques et ligneuses.

L'écorce est brunâtre et devient noirâtre avec l'âge.

En effet, les racines de cette plante constituent la partie la plus prisée par la médecine traditionnelle car douée de nombreuses propriétés thérapeutiques.

Nous pouvons citer parmi celles-ci : les parasitoses intestinales, les spasmes ...

Considérant ces vertus thérapeutiques décrites dans la littérature, nous nous sommes intéressés à l'étude de la plante afin d'apporter notre modeste contribution à l'étude chimique de celle-ci.

Ainsi, après avoir effectué une synthèse de la bibliographie relative à cette espèce, nous avons mené des investigations sur la composition chimique.

Tout d'abord, nous avons fait des tests de caractérisations sur les différents organes (feuilles, écorces de tige et racines) pour la mise en évidence de certains principes actifs. Au cours de cette phase, les dérivés anthracéniques, les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les cardiotonines ainsi que les saponosides sont révélés positifs.

Par la suite, nous avons effectué des extractions de nos différents échantillons cités plus haut. Et les extraits totaux de ces derniers ont été fractionnés avec des solvants polaires appropriés comme l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

En effet, pour 200g de poudre de feuilles, écorces de tige et de racines extraite au soxhlet avec de l'éthanol 90°, nous avons obtenu respectivement les rendements suivants : **11,7%** ; **12,5%** ; et **16,5%**.

Ensuite les fractions d'acétate d'éthyle, butanolique et aqueux résiduel sont dissoutes dans du méthanol pour des CCM.

Ces CCM ont révélé effectivement la présence des dérivés anthracéniques, des flavonoïdes et des tanins condensés (**voir tableaux 6 à 12**).

Enfin, au terme de la CCM, nous avons effectué le dosage des dérivés anthracéniques et des flavonoïdes.

C'est ainsi que nous avons obtenu pour le dosage des anthracènes une teneur de **0,015%** pour l'extrait de racines entières ; **0,006%** pour l'extrait d'écorces de tige ; et **0,012%** pour l'extrait de feuilles.

De plus, la séparation des racines en écorce et en bois, nous a permis d'avoir les teneurs respectives de **0,016%** et **0,003%**. Donc l'écorce de racines est plus riche en dérivés anthracéniques.

Pour les flavonoïdes, les pourcentages obtenus après calcul sont : **0,079%** extrait de racines entières ; **0,042%** extrait écorces de tige ; et **0,025%** extrait de feuilles. Cela nous permet aussi de dire que les racines possèdent aussi les proportions les plus significatives en flavonoïdes.

Dans la même dynamique, l'échantillon de racines scindé en deux parties permet de mettre en exergue que son écorce est plus riche en flavonoïdes que son bois dont les teneurs respectives sont **0,034%** et **0,026%**.

Au terme de cette étude, nous pouvons retenir que cette légumineuse détient des proportions significatives en dérivés anthracéniques et en flavonoïdes. Et les extraits de racines sont plus riches en ces principes actifs.

En outre, ces derniers sont plus concentrés dans les écorces de racine que dans le bois. Il faut souligner que nous n'avons pas rencontré dans la littérature un auteur qui fait sienne de cette séparation. Cela peut confirmer l'usage des écorces de racines à de nombreux fins thérapeutiques

En somme, ces résultats préliminaires très modestes à la contribution de l'étude chimique de *Cassia sieberiana* appellent d'être affinés.

Par ailleurs, il serait intéressant de diversifier les lieux et les périodes de récoltes mais aussi veiller sur une extraction et une purification plus fines afin de mieux quantifier les principes actifs.

Puisque ces molécules (anthracènes et flavonoïdes) sont aussi présentes dans les racines que les parties aériennes (feuilles et écorces de tiges) de la plante, il serait intéressant aussi de faire des essais pharmacologiques avec ces dernières.

Si de telles études seraient avérées vraies, la substitution des racines au profit de la partie aérienne pourrait être envisagée dans le but d'assurer la conservation de l'espèce.

# **BIBLIOGRAPHIE**

## **BIBLIOGRAPHIE**

### **1-ADJANOHON E.J et Coll. (1968)**

Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Edition ACCT

### **2-ANTON-R. (1968)**

Contribution à l'étude chimique qualitative de quelques espèces du genre Cassia L. Thèse de Pharm Strasbourg France pp 51-55 ; 171p

### **3-ARBONNIER M. (2000)**

Arbres, Arbustes et Lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Edition CIRAD- MNHN. UICN; 539p

### **4-BASSENE S. (1991)**

Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle. Enquête ethnobotanique chez les Diola « Bin- Bandial »

Thèse de Doct. Pharm, Dakar, n°65

### **5-BENOV L., GEORGIEV N. (1994).**

The Antioxydant Activity of Flavonoids Isolated from *Corylus colurna*.

Phytotherapy Research, 8, 92-94.

### **6-BERHAUT J. (1975)**

Flore illustré du Sénégal Tome IV, Dakar.

Gouvernement du Sénégal, Edition Clairafrique

**7-DALZIEL J.M. (1937)**

The useful plants of west tropical africa appendix to the flora of west tropical africa, London

**8-DIAGNE A. (1988)**

Plantes médicinales du marché sénégalais. Marché de Tilène.

Thèse de Doct Pharm. UCAD. Dakar, n°78

**9-DIATTA W. (2000)**

Etude des profils alcaloïdes et tanniques de *Guiera senegalensis* J.F.Guel (Combretaceae) Mémoire de DEA de Biologie Végétale, UCAD, Dakar, 43p

**10-ENDA SANTE (1987)**

Environnement et développement du tiers monde

Plantes et arbres utiles. Fiches techniques n°40 Enda,

**11-FALL A.D. (2004)**

Etude de l'activité spasmolytique des racines de *Cassia seberiana* D.C. (Caesalpiniceae), Mémoire de DEA de Chimie et Biochimie des Produits Naturels, UCAD, Dakar, 45p

**12-FALL, B. (1989)**

Contribution à l'étude de *Cassia sieberiana* (Casalpinaceae) Essais cliniques sur l'activité antifongique

Thèse de Doct.Pharm.Dakar, n°3

**13-FORTIN D-MAYART G- LO M . (1997)**

Plantes médicinales du sahel. Edition CECI/ENDA

**14-GUEYE .F. (2001)**

Recherche des activités spasmolytiques et antiparasitaires des racines de  
*Cassia sieberiana* D.C. (Caesalpiniceae)

Thèse de Doct Pharm, n°79 UCAD, Dakar,103p

**15-GUIGNARD J.L (1986)**

Abrégé de botanique 6° édition. Edition Masson, Paris.

p4-10 ; 109-176

**16-KERHARO-J (1974)**

La pharmacopée sénégalaise traditionnelle

Plantes médicinales et toxiques, pp 275-277

**17-KERHARO-J. BOUQUET A.(1950)**

Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire et de la Haute Volta, Edition  
Vigot

**18-MBAO M. (1995)**

Contribution à l'étude chimique et pharmacologique de l'extrait aqueux de  
*Cassia occidentalis* L. (Cæsalpiniées), action spasmolytique de l'extrait aqueux  
des racines,

Thèse Doct Pharm, UCAD Dakar, n°29, 94p

**19-PARIS et ETCHEPARE (1967)**

sur les polyphénols du *Cassia sieberina* D.C. Isolement du L-épicatéchol et du leucopélargonidol

**20-POUSSET J.L (1986)**

Plantes médicinales africaines. Utilisation pratique; Edition Ellipses. ACCT, Paris,

**21- SEMDE R , NIKIEMA .J .B , DJIERRO .K, SAWADOGO .L, OUATTARA .A , SOME. E , SOURABIE. S, GUISSOU. I.P. (2003)**

Mise en gélules d'une poudre d'écorces de racine de *Cassia sieberiana* DC , plante utilisée par les tradipraticiens de Ouagadougou pour le traitement de l'infection à VIH

**22-SILVA O., FERREIRA E., VAZPATO M., and GOMES E. ( 1997)**

Guinea – Bissau's plants: in vitro susceptibility studies on *Neisseria gonorrhoea* International Journal of Pharmacognosy, vol. 35, n°5, pp323-328

**23-SOW .B. (2004)**

Etude bioguidée de la fraction anticoccidienne de l'extrait des racines de *Cassia sieberiana* D.C. (Caesalpinaceae) chez les lapins  
Mémoire de DEA de Chimie et Biochimie des produits naturels, FST, UCAD, Dakar,43p

**24-TRAORE M. (1994)**

Contribution à l'étude des sapogénines des feuilles de *Combretum micranthum*  
G.Don (Combretaceae)

Mémoire DEA de Chimie et Biochimie des Produits Naturels, FST, UCAD,  
Dakar, 68p

**25-VIGNOLI L. et BALANSARD J. (1940)**

Annales Musée colonial Marseille

**26-WANE .A. (2003)**

Contribution à l'étude de la composition chimique des feuilles de *Cassia tora*  
linn (Caesalpiaceae)

Mémoire de DEA de Chimie et Biochimie des produits naturels, FST ,  
UCAD, Dakar, 48p

**Auteur** : Mouhamate DIOUF

**Année** : 2007

**Etablissement** : Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (FST)

**Titre** : Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de Chimie et Biochimie des produits Naturels  
**Sujet** : « Contribution à l'Etude comparative de la composition chimique des différents organes de  
Cassia sieberiana »

**Date et Lieu de Soutenance** : Le 07 Mars 2007 à l'UCAD

**COMPOSITION DU JURY** :

**Président** : M. Abdoulaye SAMB, Professeur titulaire FST/UCAD

**Membres** : M. Emmanuel BASSENE, Professeur titulaire FMPO/UCAD

M. Yérim Mbagnick DIOP, Maître de Conférences agrégé FMPO/UCAD

**Résumé** :

Cassia sieberiana est une plante de la famille des Caesalpiniaceae. Elle est appelée cassia de sieber en français, «senjen» en Wolof, «salé» en Sérère, «bosé» en peulh et «buseit» en Diola.

Cette espèce végétale est très connue au Sénégal par ces multiples vertus thérapeutiques par ailleurs ces racines sont très prisées en médecine traditionnelle. En effet, elles sont réputées être actives dans de nombreuses affections telles que les parasitoses intestinales, les spasmes...

L'objet de notre étude est de rechercher la présence de certains principes actifs dans les différents organes (racines, écorces de tige et feuilles) de la plante en vue d'une comparaison. Des tests de caractérisations ont permis d'affirmer la présence de dérivés anthracéniques, des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des saponosides, des dérivés cardiotoniques. Par la suite, les extractions (racines, écorces de tige et feuilles) à l'éthanol 90° suivies des fractionnements à l'acétate d'éthyle et au butanol ont permis d'avoir ces rendements respectifs : (21%, 12% et 3%) contre (12,8%, 8% et 9%).

A l'issue de ces extractions, nous avons effectué la CCM des différentes fractions. Par ailleurs les dérivés anthracéniques, les tanins catéchiques et les flavonoïdes ont été décelés. De plus deux profils flavoniques ont été visualisés.

Le dosage des dérivés anthracéniques et des flavonoïdes dans les différents organes ont révélé des proportions différentes.

Pour les anthracènes, les résultats montrent que l'extrait de racine entière présente la teneur la plus importante comparée à l'extrait de feuilles et à l'extrait d'écorce de tige dont on a respectivement : 0,015% ; 0,012% et 0,006%. Par ailleurs la racine entière scindée en deux permet d'avoir ces teneurs 0,016% pour l'écorce contre 0,003% pour le bois.

En ce qui concerne les flavonoïdes, le même constat est fait. La racine entière présente une teneur de 0,079% contre 0,042% pour les écorces de tige et 0,025% pour les feuilles. De même, les flavonoïdes sont plus présents dans l'écorce que le bois de racine (0,034% contre 0,026%).

Puisque les flavonoïdes et les anthracènes sont aussi présents dans la partie aérienne (feuilles et écorce de tige) que celle racinaire, il serait intéressant de rechercher leur activité pharmacologique comme cela était fait pour les racines, notamment les activités anti spasmodiques et anti parasitaires. Une telle étude avérée permettra de substituer les feuilles aux racines, assurant mieux aussi la survie de l'espèce.